EGFR家族受体的分子结构与药物作用机制

王星星, 谷少伟, 米立志*

天津大学生命科学学院, 天津 300072

* 联系人, E-mail: lizhi.mi@tju.edu.cn

收稿日期: 2018-01-08; 接受日期: 2018-03-18; 网络版发表日期: 2018-05-07

国家自然科学基金(批准号: 31470730)资助

摘要 表皮生长因子受体(EGFR)及其同源蛋白HER2, HER3, HER4是调控细胞生长与分化的重要酪氨酸激酶受体. 这些受体的突变或过表达将会引起激酶活性的失调, 并导致包括肺癌与乳腺癌在内的各种癌症. 因此, 这些受体是治疗癌症的重要药物靶点. 虽然目前对于EGFR激酶突变所引起的激酶活性失调及其致癌机制已有较深入的研究, 但对于由EGFR或HER2过表达所引发的跨膜信号变化, 相应的分子结构, 以及由此导致的癌症发生与耐药性产生的分子机制则均不甚明了, 在临床上也缺乏有效的靶向性药物或治疗窗口. 本文将对EGFR家族受体的分子结构、跨膜信号传导机制, 以及EGFR靶向药物的研究进行回顾和展望.

关键词 酪氨酸激酶受体, 抗癌药物, 蛋白结构

EGFR和它的3个同源蛋白HER2, HER3, HER4同属于酪氨酸激酶受体家族^[1,2]. 它们是调控细胞生长、机体发育和组织动态平衡的重要受体分子. 在正常生理状态, 这些受体的跨膜信号传导是由配体结合所触发, 并受到严格调控的. 这样保证了, (i) 在没有配体时, 不致引发错误的跨膜信号; (ii) 在配体结合后, 相应信号能准确传递至细胞内激活激酶活性, 调控相关基因的表达与转录, 进而促进细胞生长、分化与繁殖; (iii) 在受体激酶被激活后, 能通过负反馈机制抑制激酶活性, 使受体分子的活性在配体消失后能恢复到基态^[3]. 一旦这些调控机制受到破坏, 持续的生长信号导致相应细胞发生转化, 进而发生癌变^[3,4]. EGFR及其同源受体的致癌作用最早是通过病毒学研究揭示的. *V-erbB*和*neu*是病毒携带的两个致癌基因. 而这两个基因

编码的是突变了EGFR与HER2受体^[5-8]. 自此发现以后, 人们在乳腺癌、肺癌、脑癌、头颈癌、卵巢癌、前列腺癌等各种癌症中均发现由EGFR/HER2等受体持续性激活所导致的信号失调与异常. 而这些信号的失调与异常与癌症的发生、快速恶化及患者的低存活率直接相关^[9]. 因此, 深入理解与阐明这些受体分子的完整结构及跨膜信号传导的分子机制与调控机制具有重要的生物学意义和医学价值.

1 EGFR受体的分子结构与跨膜信号传导

1.1 EGFR的结构特征

EGFR家族的4个同源蛋白(包括EGFR (ErbB1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3)和HER4 (ErbB4))均属

引用格式: 王星星, 谷少伟, 米立志. EGFR家族受体的分子结构与药物作用机制. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 735–744

Wang X X, Gu S W, Mi L Z. Structural basis for EGFR transmembrane signaling and its implications in therapeutic development (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2018, 48: 735–744, doi: [10.1360/N052018-00007](https://doi.org/10.1360/N052018-00007)

于I型糖基化膜蛋白。它们在一级序列上包含配体结合的胞外域、单次跨膜域、近膜域(juxtamembrane domain)、激酶和柔性的C末端片段(图1)。在柔性的C末端片段上含有多个酪氨酸磷酸化位点。但EGFR家族4个同源蛋白之间结构上也存在一定差异。EGFR与HER4具有功能完备的胞外配体结合域和可以激活的激酶结构域。但HER2的胞外域或不具有配体结合能力,亦或至今没能发现其配体^[10,11]。HER3包含一个膺激酶(pseudo kinase),尽管有报道认为这一膺激酶存在微弱的激酶活性^[12],但普遍认为这一膺激酶的微弱活性不具有生理功能^[13,14]。

根据目前广泛接受的模型,配体结合导致这些受体分子由单体形成同型或异型二聚体,进而激活激酶的活性(图2)^[15]。激活的激酶通过自我或相互磷酸化来

修饰这些受体的C末端的磷酸化位点。这些被修饰的磷酸化位点为细胞内的适配分子所识别,从而将配体结合信号偶联到胞内的Ras/MAPK, PI3K/Akt 或DAG/IP3等各种信号通路,促进细胞的生长与繁殖^[2,14]。与此同时,通过细胞内的一系列负反馈机制,如去磷酸化,近膜域的丝氨酸/苏氨酸的磷酸化,受体的内吞、循环与降解等,生长信号最终被衰减与抑制^[1,3]。

EGFR, HER2等受体的过表达既有可能通过改变受体与配体的结合能力,也有可能通过改变受体的聚集状态来激活激酶活性。并且,至少在部分癌细胞系中可能还存在如Mig6等负反馈抑制机制^[16]。这些因素均会对药物的选择、耐药性的产生,以及生物治疗机制的研究产生影响^[16]。

尽管这一配体诱导的二聚化模型广为接受,但一

图1 EGFR的一级结构(网络版彩图)

图2 EGFR激酶受体的激活模型(网络版彩图)

系列实验也提示在无配体时受体分子在细胞表面也会以二聚体形式存在^[17,18], 而此时激酶则有可能是通过形成多聚体的方式被激活^[15].

Kuriyan研究组^[17]利用单分子技术研究了EGFR的多聚化形成. 他们发现, EGFR胞外第4个亚结构域可能介导了结合配体的二聚化受体的多聚化, 并提出EGFR的多聚化对于激酶的协同激活以及受体C末端的自磷酸化起着重要的作用. Natalia研究组^[19]进一步的研究还表明, 不同的配体对于这一过程起着不同的调节作用. 而且发现无配体结合的二聚化受体虽然可以实现自我磷酸化并招募下游适配体分子, 但无法进一步组装成多聚体并激活下游的Ras通路^[20].

1.2 EGFR胞外域

近年随着有关EGFR等受体的结构生物学研究的一系列突破, 研究者们对于这些受体的二聚化和激酶的变构激活的分子机制有了较深入的理解. 在没有配体存在时, 受体分子的胞外域是以折叠的、自我抑制的单体构象存在的^[21,22]. 在这一结构中, 胞外域的第2个亚结构域与第4个亚结构域相互作用, 形成一个分子内的“铰链”, 把胞外域锁定在一弯曲的折叠态(图3). 在配体结合后, 配体嵌入受体胞外域第1个与第3个亚结构域的缝隙, 使胞外域有足够的能量得以伸展^[23]. 与此同时, 原来分子内的“铰链”结构被打破, 两个配体结合的受体分子可以通过新暴露出来的第2个亚结构域形成二聚体^[24,25]. 在这一过程中, 第4个亚结构域也参与其中^[26]. 一些与癌变相关的突变就坐落于靠近第4个亚结构域的二聚体结合部位^[26].

Lemmon研究组^[27]解析了果蝇(*Drosophila melanogaster*) EGFR受体胞外域在结合其配体Spitz后的两种不同结构. 他们发现当两个果蝇EGFR的胞外域在结合

图3 EGFR受体胞外域在配体诱导下的构象变化(网络版彩图)

一个配体时会形成非对称的二体, 其中一个受体与配体的结合会抑制另一个受体与配体的结合. 因此, 他们提出了EGFR配体结合的负协同效应假说. 他们的后续研究进一步表明, 人的EGF受体的胞外域在结合不同配体时也会形成不同的结构: 与弱结合能力的配体(如Epregrin)结合时会形成非对称结构的二体; 而与强结合能力的配体(如EGF)结合时则会形成对称结构的二体. 并且这两种不同的配体导致乳腺癌细胞分别发生分化或增殖两种不同的反应^[28].

1.3 激酶结构域

Kuriyan研究组关于激酶结构的开创性研究揭示了激酶自我抑制与激活的分子机制. 他们通过分析激酶在晶格中的排布与接触界面, 发现具有激活态构象的激酶会形成非对称的、头尾衔接的二聚体或多聚体(图4)^[29]. 在这一非对称聚集中, 一个激酶的C叶(C lobe)与另一个激酶的N叶(N lobe)相互作用, 从而把后者稳定在激活态构象. 与此形成对照, 非激活态的激酶在晶格中会形成对称的二聚体^[30]. 在这对称的二聚体中, 两个激酶的N叶头对头相互作用, 并被受体的C末端片段所稳定. 如这一相互作用界面被突变所破坏, 激酶会失去自我抑制而自发激活, 导致C-末端尾部的磷酸化, 从而招募含有SH2以及PTB结构域的蛋白, 使下游信号通路异常激活, 导致细胞癌变.

进一步的研究表明, EGF受体激酶的自我抑制以及通过形成非对称二聚体的别构激活机制在进化上存在很强的保守性^[31].

1.4 跨膜区与近膜区

最近, 受体的跨膜区与近膜区成为了这一领域的研究热点. 研究表明, 受体的跨膜区可以存在两种不同的二聚化模式: (i) 通过跨膜区的N-端相互作用的八字形结合模式; (ii) 通过C-端相互作用的V字形模式^[32,33]. 这两种模式分别对应于激酶的激活态与非激活态, 参与激酶活性的调控.

EGFR胞内近膜区包括两部分, JM-A (645~663位残基)与JM-B (664~682位残基). 在激活态构象的受体中, 两个激酶的JM-A部分形成反向平行的 α 螺旋, 而JM-B部分参与了激酶的激活态非对称二聚体的形成, 对于稳定激酶的激活态构象起着重要作用^[30,34]. 并且胞内近膜区在受体的跨膜信号传导中, 即连接胞外配

图4 EGFR激酶的对称性与非对称性二聚体(网络版彩图)

体的结合与胞内激酶的别构激活的过程中,起着重要的作用^[35]。当全长EGFR的近膜区被一段无规卷曲代替后,虽然该受体仍可结合EGF并形成二聚体,但却失去了其配体依赖的、增强的自我磷酸化能力^[36]。

1.5 C末端片段

受体的C末端尾部含多个磷酸化位点,在激酶活性调节及招募下游适配分子的过程中发挥着重要的作用^[37]。Kuriyan研究组^[37]的研究表明,EGFR尾部前面约80个氨基酸(957~1030)在激酶活性的自抑制方面起着重要作用。而环绕Y1086的6个氨基酸则对激酶活化环的磷酸化有很大影响^[37]。

EGFR的信号同时会受到其他分子或信号的调控,例如,Src家族的激酶会增强EGFR的信号^[38,39]。Eck研究组^[38,39]的工作揭示EGFR的适配分子Shc或负反馈抑制因子Mig6预先被Src磷酸化会增强EGFR对底物的识别与磷酸化水平。这些结果使研究者们可以从结构的角度更好地理解不同的信号是如何整合在一起的。

以上这些结构生物学研究采用分割包围的策略对EGFR及其同源受体的各个结构域进行了研究^[40]。这些工作对于理解EGFR及其同源受体的功能起了关键性的作用。但一个重要的问题是,在完整的受体分子水平,各个功能域的结构与功能是如何整合在一起,又是如何互相偶联与协同的^[40]?为了回答这一问题,Springer研究组^[26,41]用电子显微镜观察了完整受体在去污剂条件下各功能域的偶联关系,发现在配体结合时,胞外功能域的一个构象可以对应于胞内激酶的若干不同构象(图5)。因此,完整受体的胞外域与胞内激酶的构象是通过跨膜区松散的偶联、整合在一起的。

进一步的研究则需要探讨脂膜及磷脂的构成对受体功能与结构的调控作用与机制^[40]。

Shaw研究组^[32,33]利用分子动力学模拟的方法研究了完整EGF受体的胞外域与胞内激酶域的跨膜偶联关系。他们的模拟研究表明,EGFR的胞外近膜区存在较大的结构柔性,而这一特性对于全长受体的自我抑制与激活都起着重要作用^[32,33]。

以上这些关于EGFR及其同源受体的跨膜信号的结构与机制研究,为更好地理解因这些受体信号失调所导致的癌症的致病机制,以及设计靶向性药物奠定了基础。

2 EGFR致癌突变的结构与分子基础

随着基因测序技术的发展,人们在各种癌变组织中发现了大量的EGFR的插入、缺失或错义突变(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>),并确认其中部分突变与癌症的发生、发展密切相关(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)。但到目前为止,除少数突变外,人们对大部分致癌突变体的分子结构及其调节受体激酶活性的机制还不甚明了。因此,急需进一步的深入研究。

已知与恶性胶质瘤、脑癌、头颈癌相关的致癌突变大部分位于受体的胞外域^[42],且集中于胞外域的第2和第4个亚结构域(图6A~C)。这些突变可以通过:(i)增强配体的结合能力;(ii)增强受体/受体之间的相互作用,促进受体的寡聚化;(iii)削弱受体胞外域对激酶域寡聚化的抑制功能;(iv)破坏胞外域折叠构象的稳定性等4种手段来增强EGFR的信号。但因绝大多数突变均远离胞外第2、4亚结构域的作用界面(图6B和C),因此,前3种机制可能在受体的异常激活中起着更主要的作用。

激酶域的突变在头颈癌、肺癌中均有发现^[43,44],这些突变集中于激酶的N叶以及激酶的ATP结合部位(图6D)。这些突变可以通过降低激酶非活性构象的稳定性,或者增强激酶活性构象的稳定性来增强激酶的活性。如L858R突变打破了激酶非活性构象的稳定^[45],而EGFR外显子19的缺失突变使连接激酶 β 3折叠与 α C螺旋之间的无规卷曲缩短,迫使激酶的 α C螺旋只能向内,从而使激酶处于激活构象^[45~47]。正因如此,携带该突变的患者对于Lapatinib等稳定激酶非活性构象的抑

图 5 EGFR受体胞内外构象态的跨膜松散偶联

图 6 EGFR胞外域以及激酶结构域突变位点与癌症的关联

制剂具有耐药性^[45-47]。

此外, EGFR, HER2等受体的过表达也是造成这些受体信号失调的主要原因。如EGFR与HER2的过表达常见于头颈癌与乳腺癌患者中, 并且也是导致这些患者抗药性的一个重要因素^[48,49]。但因过表达的受体与维持细胞正常生长的受体同为野生型, 单个受体之间没有结构与功能上的差异, 因此目前对于由此导致的癌症及其耐药性缺乏有效的靶向性药物和治疗窗口^[50,51]。

3 EGFR靶向抗体药物与小分子抑制剂

因为EGFR, HER2等受体是治疗癌症的重要药物靶点, 开发针对EGFR, HER2的靶向性药物及研究这

些药物的作用机制是当前研究的一个重要方向^[46,52-57]。这些靶向性药物可分为两类: 小分子激酶抑制剂和大分子抗体药物。

3.1 小分子激酶抑制剂

目前市场上的小分子激酶抑制剂根据它们对激酶构象的影响, 可以大致分为两类(图6)。一类分子较小, 如PD168393, 它们既可嵌入激活态激酶的ATP结合部位, 也可嵌入非激活态激酶的ATP结合部位。但这些分子往往对于处于激活态的突变型激酶具有较高的亲和力^[55,56]。因此, 这些抑制剂可能倾向于把激酶稳定在激活态, 并阻断ATP的结合与磷酸化的发生。第二类分子较大, 如HKI-272, 它们结合在激酶的ATP结合部位, 使C螺旋外移, 导致激酶处于非激活构象态^[52]。虽然这两

图7 EGFR激酶抑制剂(网络版彩图)

类激酶抑制剂均可阻断ATP的结合与磷酸化的发生,但在临床应用上以及作用机制上是否等同仍有待研究^[41]。

这两类抑制剂均是基于苯胺喹唑啉核心结构的ATP竞争性抑制剂。它们对受体激酶的抑制能力取决于以下4个因素: (i) 抑制剂与受体激酶的亲和力; (ii) ATP与激酶的结合能力(以酶反应动力学的米氏常数 $K_{m[ATP]}$ 来表征); (iii) 细胞内抑制剂的浓度; 以及 (iv) 细胞内ATP的浓度(约1 mmol/L)。激酶域的致癌突变(如L858R, G719S, $\Delta 746-750$)改变了激酶在活性构象与非活性构象之间的动态平衡,导致激酶的非正常激活^[45]。而这一结构上的改变导致突变的激酶对ATP的结合能力下降,而对Gefitinib, Erlotinib这类抑制剂的亲和力增强,从而为降低这类抑制剂对表达野生型受体的正常组织的毒性,提高对携带突变的癌变组织的抑制能力开辟了治疗窗口^[58]。

因此在临床上,这类小分子激酶抑制剂对于由激酶突变引起的癌症疗效比较明显,但对于由激酶过表达引起的癌症则缺乏疗效^[50,59]。另一方面,虽然这些抑制剂在治疗初期疗效比较显著,但由于癌症基因组的不稳定性等因素,激酶会发生进一步的突变导致耐药性的产生^[56]。如激酶ATP结合位点T790M的突变导致患者对小分子抑制剂Gefitinib, Erlotinib及Afatinib耐药性的产生。T790位于激酶ATP结合口袋的后部,也被称为“守门残基”(gatekeeper),它对抑制剂的特异性结合起着决定性作用。虽然早期人们猜测T790M的突变可能通过空间位阻效应阻碍了抑制剂的结合,但是

Eck研究组^[58]通过一系列结构生物学与生物化学实验证明, T790M甲硫氨酸的侧链可以通过采用不同的旋转异构体的构型让抑制剂仍可与激酶结合。但是L858R/T790M与L858R相比,其对Gefitinib的亲和力降低了约4倍,而对ATP的结合能力提高了约18倍。这一改变导致抑制剂丧失了原有的治疗窗口^[58]。

第三代抑制剂CO-1686与AZD-9291是基于嘧啶的骨架,并引入迈克尔受体,使这些抑制剂能与位于激酶ATP结合口袋边上的Cys797共价结合。因此,这些抑制剂可以克服由T790M突变引起的升高的ATP亲和力的影响,从而能够有效抑制T790M突变体活性^[58]。但当EGFR再次产生C797S突变时,这些不可逆抑制剂的作用效果还是会削弱。

Eck研究组^[60]另辟蹊径,设计、筛选了非ATP竞争的、且对突变体具有选择性的别构抑制剂。这一抑制剂(EAI045)可以和抗体药物Cetuximab联合使用,有效抑制因T790M/C797S突变引起的耐药性问题^[60]。但是当EAI045单独使用时,却不能抑制癌症细胞的异常增殖^[60]。

目前仍需针对不同耐药机制,开发下一代激酶抑制剂^[61]。如Shokat研究组^[62]发现, Neuregulin会促进其受体HER3与HER2形成激活态异源二聚体,从而导致癌细胞对Lapatinib和TAK-285产生耐药性。他们通过建立高通量筛选平台,筛选到可以稳定这一激活态二聚体的HER2靶向抑制剂,并证明这一新抑制剂可以克服Neuregulin导致的耐药性^[62]。

3.2 抗体药物

抗体药物从分子水平上的作用方式可被分为两类: (i) 阻断受体胞外域和配体的结合,如Cetuximab(图8)^[53,63]; (ii) 阻断受体的二聚化,如Herceptin, Pertuzumab(图8)^[64]。抗体药物同样存在耐药性的问题。虽然目前已有抗体药物应用于临床,但对于抗体药物的作用机制,如它们对于何种受体信号失调类型更具有特异性,对于激酶活性又是如何通过细胞膜来抑制的等问题,仍缺乏足够了解^[53,65,66]。

因为抗体药物与激酶抑制剂均存在耐药性问题,而他们的作用位点又不相同,所以以抗体药物和激酶抑制剂结合的组合法目前引起人们的关注^[67]。现有实验表明,有些抗体与抑制剂的组合具有协同疗效^[60],但另一些并不具有^[68]。其中的差异与内在的分子机制

图 8 EGFR/HER2胞外域与抗体Fab作用位点示意图

还不清楚。

4 展望

目前对于EGFR, HER2等受体的跨膜信号传导的分子结构与机制、激酶抑制剂与抗体药物作用机制的研究是癌症生物学研究的一个热点, 但仍有很多重要问题有待回答。如在脂膜环境中, 完整受体的各结构

域是如何整合在一起行使功能的? 相应的分子结构是怎样的? 受体过表达对于配体结合能力和激酶活性各有什么样的影响? 抗体药物的作用机制是什么? 抗体药物与小分子激酶抑制剂是如何通过脂膜相互影响与协同的? 上述问题的解决将加深对于酪氨酸激酶受体的分子结构, 跨膜信号传导机制, 以及抗体药物与小分子激酶抑制剂协同机制的理解, 在基础生物学和临床医学上均具有重要意义。

致谢 衷心感谢清华大学隋森芳老师、赵亮同学以及天津大学尚庆斌同学在文章撰写过程中提出的宝贵意见与建议。

参考文献

- 1 Yarden Y, Pines G. The ERBB network: at last, cancer therapy meets systems biology. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 553–563
- 2 Lemmon M A, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 2010, 141: 1117–1134
- 3 Avraham R, Yarden Y. Feedback regulation of EGFR signalling: decision making by early and delayed loops. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12: 104–117
- 4 Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature*, 2001, 411: 355–365
- 5 Bargmann C I, Hung M C, Weinberg R A. Multiple independent activations of the neu oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185. *Cell*, 1986, 45: 649–657
- 6 Bargmann C I, Hung M C, Weinberg R A. The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. *Nature*, 1986, 319: 226–230
- 7 Downward J, Yarden Y, Mayes E, et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature*, 1984, 307: 521–527
- 8 Schechter A L, Stern D F, Vaidyanathan L, et al. The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature*, 1984, 312: 513–516
- 9 Olayioye M A, Neve R M, Lane H A, et al. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J*, 2000, 19: 3159–3167

- 10 Alvarado D, Klein D E, Lemmon M A. ErbB2 resembles an autoinhibited invertebrate epidermal growth factor receptor. *Nature*, 2009, 461: 287–291
- 11 Shi F, Telesco S E, Liu Y, et al. ErbB3/HER3 intracellular domain is competent to bind ATP and catalyze autophosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 7692–7697
- 12 Jura N, Shan Y, Cao X, et al. Structural analysis of the catalytically inactive kinase domain of the human EGF receptor 3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 21608–21613
- 13 Schlessinger J. Ligand-induced, receptor-mediated dimerization and activation of EGF receptor. *Cell*, 2002, 110: 669–672
- 14 Yarden Y, Sliwkowski M X. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2: 127–137
- 15 Clayton A H A, Walker F, Orchard S G, et al. Ligand-induced dimer-tetramer transition during the activation of the cell surface epidermal growth factor receptor-A multidimensional microscopy analysis. *J Biol Chem*, 2005, 280: 30392–30399
- 16 Chang X, Izumchenko E, Solis L M, et al. The relative expression of Mig6 and EGFR is associated with resistance to EGFR kinase inhibitors. *PLoS ONE*, 2013, 8: e68966
- 17 Huang Y, Bharill S, Karandur D, et al. Molecular basis for multimerization in the activation of the epidermal growth factor receptor. *eLife*, 2016, 5: e14107
- 18 Chung I, Akita R, Vandlen R, et al. Spatial control of EGF receptor activation by reversible dimerization on living cells. *Nature*, 2010, 464: 783–787
- 19 van Lengerich B, Agnew C, Puchner E M, et al. EGF and NRG induce phosphorylation of HER3/ERBB3 by EGFR using distinct oligomeric mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E2836–E2845
- 20 Liang S I, van Lengerich B, Eichel K, et al. Phosphorylated EGFR dimers are not sufficient to activate ras. *Cell Rep*, 2018, 22: 2593–2600
- 21 Ferguson K M, Berger M B, Mendrola J M, et al. EGF activates its receptor by removing interactions that autoinhibit ectodomain dimerization. *Mol Cell*, 2003, 11: 507–517
- 22 Cho H S, Leahy D J. Structure of the extracellular region of HER3 reveals an interdomain tether. *Science*, 2002, 297: 1330–1333
- 23 Bessman N J, Bagchi A, Ferguson K M, et al. Complex relationship between ligand binding and dimerization in the epidermal growth factor receptor. *Cell Rep*, 2014, 9: 1306–1317
- 24 Garrett T P J, McKern N M, Lou M, et al. Crystal structure of a truncated epidermal growth factor receptor extracellular domain bound to transforming growth factor α . *Cell*, 2002, 110: 763–773
- 25 Ogiso H, Ishitani R, Nureki O, et al. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell*, 2002, 110: 775–787
- 26 Lu C, Mi L Z, Grey M J, et al. Structural evidence for loose linkage between ligand binding and kinase activation in the epidermal growth factor receptor. *Mol Cell Biol*, 2010, 30: 5432–5443
- 27 Alvarado D, Klein D E, Lemmon M A. Structural basis for negative cooperativity in growth factor binding to an EGF receptor. *Cell*, 2010, 142: 568–579
- 28 Freed D M, Bessman N J, Kiyatkin A, et al. EGFR ligands differentially stabilize receptor dimers to specify signaling kinetics. *Cell*, 2017, 171: 683–695.e18
- 29 Zhang X, Gureasko J, Shen K, et al. An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. *Cell*, 2006, 125: 1137–1149
- 30 Jura N, Endres N F, Engel K, et al. Mechanism for activation of the EGF receptor catalytic domain by the juxtamembrane segment. *Cell*, 2009, 137: 1293–1307
- 31 Liu L, Thaker T M, Freed D M, et al. Regulation of kinase activity in the caenorhabditis elegans egf receptor, let-23. *Structure* (London, England: 1993), 2018, 26: 270–281.e274
- 32 Arkhipov A, Shan Y, Das R, et al. Architecture and membrane interactions of the EGF receptor. *Cell*, 2013, 152: 557–569
- 33 Endres N F, Das R, Smith A W, et al. Conformational coupling across the plasma membrane in activation of the EGF receptor. *Cell*, 2013, 152: 543–556
- 34 Wood E R, Shewchuk L M, Ellis B, et al. 6-Ethynylthieno[3,2-d]- and 6-ethynylthieno[2,3-d]pyrimidin-4-anilines as tunable covalent modifiers of ErbB kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2773–2778
- 35 Scheck R A, Lowder M A, Appelbaum J S, et al. Bipartite tetracysteine display reveals allosteric control of ligand-specific EGFR activation. *ACS*

- Chem Biol*, 2012, 7: 1367–1376
- 36 He L, Hristova K. Consequences of replacing EGFR juxtamembrane domain with an unstructured sequence. *Sci Rep*, 2012, 2: 854
- 37 Kovacs E, Das R, Wang Q, et al. Analysis of the role of the C-terminal tail in the regulation of the epidermal growth factor receptor. *Mol Cell Biol*, 2015, 35: 3083–3102
- 38 Begley M J, Yun C H, Gewinner C A, et al. EGF-receptor specificity for phosphotyrosine-primed substrates provides signal integration with Src. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 983–990
- 39 Park E, Kim N, Ficarro S B, et al. Structure and mechanism of activity-based inhibition of the EGF receptor by Mig6. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 703–711
- 40 Bessman N J, Lemmon M A. Finding the missing links in EGFR. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19: 1–3
- 41 Mi L Z, Lu C, Li Z, et al. Simultaneous visualization of the extracellular and cytoplasmic domains of the epidermal growth factor receptor. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18: 984–989
- 42 Ekstrand A J, Sugawa N, James C D, et al. Amplified and rearranged epidermal growth factor receptor genes in human glioblastomas reveal deletions of sequences encoding portions of the N- and/or C-terminal tails. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 4309–4313
- 43 Lynch T J, Bell D W, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2004, 350: 2129–2139
- 44 Paez J G, Jänne P A, Lee J C, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004, 304: 1497–1500
- 45 Eck M J, Yun C H. Structural and mechanistic underpinnings of the differential drug sensitivity of EGFR mutations in non-small cell lung cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804: 559–566
- 46 Red Brewer M, Yun C H, Lai D, et al. Mechanism for activation of mutated epidermal growth factor receptors in lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: E3595–E3604
- 47 Kosaka T, Tanizaki J, Paranal R M, et al. Response heterogeneity of EGFR and HER2 exon 20 insertions to covalent EGFR and HER2 inhibitors. *Cancer Res*, 2017, 77: 2712–2721
- 48 Emde A, Köstler W J, Yarden Y, et al. Therapeutic strategies and mechanisms of tumorigenesis of HER2-overexpressing breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012, 84: e49–e57
- 49 Zimmermann M, Zouhair A, Azria D, et al. The epidermal growth factor receptor (EGFR) in head and neck cancer: its role and treatment implications. *Radiat Oncol*, 2006, 1: 11
- 50 Itchins M, Clarke S, Pavlakis N. Do EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs) still have a role in EGFR wild-type pre-treated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC)?—the shifting paradigm of therapeutics. *Transl Lung Cancer Res*, 2018, 7: S39–S45
- 51 Stern H M. Improving treatment of her2-positive cancers: opportunities and challenges. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 127rv122
- 52 Blair J A, Rauh D, Kung C, et al. Structure-guided development of affinity probes for tyrosine kinases using chemical genetics. *Nat Chem Biol*, 2007, 3: 229–238
- 53 Cho J, Chen L, Sangji N, et al. Cetuximab response of lung cancer-derived EGF receptor mutants is associated with asymmetric dimerization. *Cancer Res*, 2013, 73: 6770–6779
- 54 Yasuda H, Park E, Yun C H, et al. Structural, biochemical, and clinical characterization of epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 insertion mutations in lung cancer. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 216ra177
- 55 Yun C H, Boggon T J, Li Y, et al. Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity. *Cancer Cell*, 2007, 11: 217–227
- 56 Yun C H, Mengwasser K E, Toms A V, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2070–2075
- 57 Zhang C, Lopez M S, Dar A C, et al. Structure-guided inhibitor design expands the scope of analog-sensitive kinase technology. *ACS Chem Biol*, 2013, 8: 1931–1938
- 58 Ji H, Zhao X, Yuza Y, et al. Epidermal growth factor receptor variant III mutations in lung tumorigenesis and sensitivity to tyrosine kinase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 7817–7822
- 59 Okines A, Cunningham D, Chau I. Targeting the human EGFR family in esophagogastric cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8: 492–503
- 60 Jia Y, Yun C H, Park E, et al. Overcoming EGFR(T790M) and EGFR(C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors. *Nature*, 2016,

534: 129–132

- 61 Zhou W, Ercan D, Chen L, et al. Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M. *Nature*, 2009, 462: 1070–1074
- 62 Novotny C J, Pollari S, Park J H, et al. Overcoming resistance to HER2 inhibitors through state-specific kinase binding. *Nat Chem Biol*, 2016, 12: 923–930
- 63 Li S, Schmitz K R, Jeffrey P D, et al. Structural basis for inhibition of the epidermal growth factor receptor by cetuximab. *Cancer Cell*, 2005, 7: 301–311
- 64 Franklin M C, Carey K D, Vajdos F F, et al. Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *Cancer Cell*, 2004, 5: 317–328
- 65 Garrett T P J, Burgess A W, Gan H K, et al. Antibodies specifically targeting a locally misfolded region of tumor associated EGFR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 5082–5087
- 66 Qiu C, Tarrant M K, Boronina T, et al. *In vitro* enzymatic characterization of near full length EGFR in activated and inhibited states. *Biochemistry*, 2009, 48: 6624–6632
- 67 Kim H P, Han S W, Kim S H, et al. Combined lapatinib and cetuximab enhance cytotoxicity against gefitinib-resistant lung cancer cells. *Mol Cancer Therapeut*, 2008, 7: 607–615
- 68 Keller S, Zwungenberger G, Ebert K, et al. Effects of trastuzumab and afatinib on kinase activity in gastric cancer cell lines. *Mol Oncol*, 2018, 12: 441–462

Structural basis for EGFR transmembrane signaling and its implications in therapeutic development

WANG XingXing, GU ShaoWei & MI Li-Zhi

School of Life Sciences, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Epidermal growth factor receptor (EGFR) and its homologs (HER2, HER3, and HER4) belong to receptor tyrosine kinase (RTK) superfamily. They regulate important cellular functions, including cell growth, differentiation, and proliferation. Dysregulation of these receptor transmembrane signaling, either by mutation or by overexpression, leads to oncogenesis. Therefore, they are validated therapeutic targets in the treatment of various cancers, such as lung and breast cancers. Although significant progress has been achieved in understanding the basis for oncogenesis associated with EGFR kinase mutation, less is known about how the transmembrane signaling is dysregulated by EGFR or HER2 overexpression, and how EGFR or HER2 overexpression contributes to oncogenesis and drug resistance. Herein, we review the progress in the structural studies of these receptors' transmembrane signaling and the development of their targeted therapeutics.

receptor tyrosine kinase, anti-cancer drugs, protein structure

doi: [10.1360/N052018-00007](https://doi.org/10.1360/N052018-00007)